

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1891

THÈSE

N° -254

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 2 juillet 1891, à 1 heure

Par CHARLES PRIoux

Né à Épernay, le 18 février 1867

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU POUVOIR ANTISEPTIQUE DES DÉRIVÉS DE L'ANILINE
ET DE LEUR VALEUR THÉRAPEUTIQUE

Président : M. BROUARDEL, professeur.

*Juges : MM. { BOUCHARD, professeur.
QUINQUAUD, CHANTEMESSE, agrégés.*

*Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties
de l'enseignement médical.*

PARIS

HENRI JOUVE

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, Rue Racine, 15

1891

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1891

THÈSE

N°

254

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 2 juillet 1891, à 1 heure

Par CHARLES PRIOUX

Né à Épernay, le 18 février 1867

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU POUVOIR ANTISEPTIQUE DES DÉRIVÉS DE L'ANILINE
ET DE LEUR VALEUR THÉRAPEUTIQUE

Président : M. BROUARDEL, professeur.

Juges : MM. { BOUCHARD, professeur.
QUINQUAUD, CHANTEMESSE, agrégés.

*Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties
de l'enseignement médical.*

PARIS

HENRI JOUVE

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, Rue Racine, 15

1891

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. BROU ARDEL
Professeurs	MM.
Anatomie.	FARABEUF
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale.	GARIEL
Chimie organique et chimie minérale.	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale	BAILLON.
Pathologie et thérapeutique générales.	BOUCHARD.
Pathologie médicale	DIEULAFOY
	DEBOVE
Pathologie chirurgicale.	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique.	CORNIL.
Histologie	MATHIAS DUVAL.
Opérations et appareils.	TILLAUX.
Pharmacologie.	REGNAULD.
Thérapeutique et matière médicale.	HAYEM.
Hygiène.	PROUST.
Médecine légale	BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LABOULBÈNE.
Pathologie comparée et expérimentale	STRAUS.
	G. SÉE.
Clinique médicale	POTAIN.
	JACCOUD.
	PETER.
	GRANCHER.
Maladie des enfants	
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.	BALL.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	FOURNIER.
Clinique des maladies du système nerveux	CHARCOT.
	VERNEUIL.
Clinique chirurgicale	LE FORT.
	DUPLAY.
	LE DENTU.
Clinique des maladies des voies urinaires	GUYON.
Clinique ophthalmologique	PANAS.
Cliniques d'accouchements	TARNIER.
	PINARD.

Professeurs honoraires.

MM. RICHET, SAPPEY, HARDY et PAJOT.

Agrégés en exercice

MM. BAILLET	MM. FAUCONNIER	MM. NÉLATON	MM. RIBEMONT
BAR	GILBERT	NETTER	DESSAIGNES
BLANCHARD	GLEY	POIRIER, chef	RICARD
BRISSAUD	HANOT	des travaux	ROBIN (Albert)
BRUN	HUTINEL	anatomiques	SCHWARTZ
CAMPENON	JALAGUIER	POUCHET	SEGOND
CHAUMESSE	KIRMISSON	QUENU	TUFFIER
CHAUFFARD	LETULLE	QUINQUAUD	VILLEJEAN
DEJERINE	MARIE	REITTERER	WEISS
	MAYGRIER	REYNIER	

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

15 Rue Racine 15

1891

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

Témoignage de ma profonde affection.

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MES ANCIENS PROFESSEURS
DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE REIMS

A MES MAÎTRES DANS LES HOPITAUX DE PARIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR BROUARDEL

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU POUVOIR ANTISEPTIQUE
DES DÉRIVÉS DE L'ANILINE
et de leur valeur thérapeutique

Nous tenons à remercier, en tête de ce travail, M. le professeur Brouardel, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette thèse.

Nous sommes heureux aussi de témoigner ici tous nos remerciements à M. J. Ogier, docteur ès-sciences, directeur du laboratoire de toxicologie, qui a si obligeamment mis à notre disposition son laboratoire et ses appareils et nous a ainsi facilité notre tâche.

Enfin, nous ne saurions trop remercier, d'une manière toute spéciale, notre excellent ami, M. Fred. Bordas, préparateur de la Faculté qui a bien voulu nous faire profiter de ses travaux antérieurs et nous guider dans toute la série de nos recherches.

Depuis l'apparition toute récente du mémoire du professeur Stilling, de Strasbourg, où il vantait comme antiseptiques puissants certains dérivés de l'aniline, et citait les résultats vraiment remarquables qu'il en avait obtenus, des études ont été faites en France sur ce sujet par MM. Germain Sée et Moreau, et des essais ont été tentés dans les services de MM. Panas, Le Dentu, Richelot, Reclus et Bazy. Ces derniers ont été loin de partager l'enthousiasme de MM. Stilling et Moreau et tous se sont accordés pour repousser l'usage des matières colorantes d'aniline dans la pratique chirurgicale.

C'est après avoir eu connaissance de ces faits contradictoires que nous avons voulu reprendre les expériences de MM. Stilling et G. Sée, les compléter, nous rendre un compte exact des propriétés antiseptiques des dérivés de l'aniline et de leur véritable valeur thérapeutique.

La *Revue générale d'ophtalmologie* du 30 avril 1890 publiait un mémoire dans lequel le professeur Stilling de Strasbourg étudiait les couleurs d'aniline comme antiseptiques et leur emploi en thérapeutique. Il y donnait le compte-rendu de ses recherches et reconnaissait aux dérivés de l'aniline une grande puissance antiseptique. Ces dérivés avaient en outre l'avantage d'être moins toxiques que le sublimé ou l'acide phénique.

« Certaines couleurs d'aniline, disait-il, et en particulier les couleurs violettes, possèdent toutes les qualités que l'on peut exiger d'un bon antiseptique, qui non seulement empêche l'infection, mais combat victorieusement une suppuration déjà établie. Les bacilles du charbon, les coques pyogènes, etc., aspirent, comme on le voit, sous le microscope, l'aniline comme une éponge, et l'on voit les bactéries déjà fortement colorées, avant que le liquide de la couleur ne paraisse dans le champ visuel. Avec la coloration, toute trace de mouvement est arrêtée, la cellule est morte. Est-ce qu'il ne serait pas possible de produire sur l'organisme vivant de l'animal et de l'homme, ce qui arrive si facilement dans les cultures, ou sous l'objectif, c'est-à-dire, de tuer rapidement les organismes pathogènes ? » Et il fait alors des expériences avec des solutions de méthyl violet à 1/1000 et à 1/500.

Ces solutions empêchaient et enrayaient rapidement le développement du mucor stolinifer sur la gélatine. Le penicillium glaucum qui se développait parfaitement en quatre jours sur des solutions ordinaires d'extrait de viande sucrées, s'arrêtait dans des solutions colorées au 2/1000, 3/1000. Dans des solutions au 1/12500, on trouvait, onze jours après l'ensemencement, à la surface, de petits tas de mycelium (mycelium de l'air), un peu de mycelium dans le liquide même, et aucune fructification. Les solutions de méthyl violet au 1/4000, placées dans le thermostat à 25° et dans lesquelles on avait mis de petits morceaux de bœuf cru, ne présentaient pas encore de putréfaction au bout du sixième jour.

« Ces expériences démontrent tout d'abord, dit le pro-

fesseur Stilling, que les couleurs d'aniline enrayent, même en concentration faible, le développement et la croissance des bactéries d'une façon très prononcée. En concentration plus forte, 1/2000, 1/1000, elles ne laissent plus arriver du tout les bactéries, et tuent sûrement celles qui existent.

Etudiant ensuite au même point de vue la fuchsine, le bleu de méthylène, la vésuvine, il reconnaît que ces couleurs sont loin d'avoir la même valeur que les premières.

Les recherches de Stilling étaient d'abord faites dans un but purement ophthalmologique, et il commença par étudier l'effet du méthyl violet sur l'œil du lapin. « Lorsqu'on y introduit la solution colorée de 1/100, la conjonctive et la sclérotique se colorent d'une façon très intense, l'iris aussi, très distinctement. La matière traverse la cornée normale sans la colorer en aucune façon, mais si on produit avec un couteau lancéolaire une lésion de l'épithélium, la cornée se colore d'une façon très intense. Le lendemain, la coloration a entièrement disparu.

Par les injections sous-cutanées, on peut introduire chez les lapins et chez les cochons-d'inde de très grandes quantités, chez le lapin 20 centimètres cubes d'une solution de 1/1000 et même davantage, sans que l'animal en souffre. Dans le péritoine, les injections ne sont supportées qu'à la dose de 10 centimètres cubes, sans produire de phénomènes morbides, mais si l'on injecte de très grandes quantités, l'animal meurt. A l'autopsie, on trouve le contenu de l'abdomen, tube intestinal, foie, reins, colorés d'un bleu intense; le sang a sa couleur normale, et l'examen microscopique démontre que, même dans les organes abdomi-

naux fortement colorés, les vaisseaux sont restés intacts. Probablement, la mort survient par la coloration des centres nerveux importants et la paralysie qui s'ensuit. L'autopsie ne montre aucune trace d'exudation séreuse ou d'inflammation ; la cavité abdominale est même extrêmement sèche... On peut aussi injecter dans les poumons des lapins des quantités notables sans apercevoir aucun trouble. Tout ce que nous venons de dire n'est vrai que pour des substances pures.

Le professeur Stilling passe aussitôt aux essais thérapeutiques et donne les résultats qu'il a obtenus.

Un enfant, traité inutilement pendant plus d'un mois pour un ulcère de la cornée, guérit d'un jour à l'autre après l'instillation de quelques gouttes de méthyl violet.

Une kératite violente avec hypopyon guérit dans un jour, après stérilisation de l'ulcération avec un crayon d'aniline ; de même un ulcère marginal de mauvais aspect. « Mes résultats dans ces maladies sont déjà assez nombreux pour permettre de désigner le méthyl violet comme un moyen de traitement des ulcères de la cornée qui laisse loin derrière lui tous ceux employés jusqu'ici dans cette maladie.

Dans une autre série d'affections externes de l'œil, telles que la blépharite, la conjonctivite, les phlyctènes, l'eczéma des paupières, j'ai vu par le traitement avec le méthyl violet et l'auramine des succès que d'autres médicaments employés jusqu'ici n'ont jamais produits. »

Il constate encore l'efficacité de ce nouveau traitement. :

« 1° Dans la kératite parenchymateuse : en peu de temps j'ai vu l'injection ciliaire disparaître et la fine vascularisa-

tion du bord de la cornée s'effacer, l'opacification du tissu de la cornée rétrograda rapidement, l'œil reprit toute sa transparence.

2° Dans l'iritis séreuse, et dans ses formes très graves, avec force injection sclérale de longue durée et opacités diffuses du corps vitré, dans 8 à 15 jours, l'injection disparut, toute irritation abandonna l'œil, le corps vitré s'éclaircit, et la force visuelle s'améliora en peu de jours, d'une façon surprenante.

3° Dans des cas de choroïdite disséminée de longue date, mêmes améliorations rapides. Les améliorations de la vue sont restées constantes.

4° Dans un cas d'ophtalmie sympathique grave, chez un garçon de 7 ans, auquel on avait enlevé l'œil blessé, et chez lequel je considérais l'autre œil comme perdu, je fis des instillations d'aniline à 1/1000, à partir de ce moment, l'inflammation s'arrêta, l'œil fut débarrassé de toute irritation; la force visuelle s'améliore depuis trois mois d'une façon constante, et est déjà arrivée à un état très satisfaisant. La membrane qui recouvre la pupille est devenue transparente au centre, et laisse percevoir le fond rouge de l'œil à l'éclairage ophtalmoscopique ».

Enfin, Stilling emploie l'aniline en chirurgie et obtient des succès également remarquables.

« Suppuration de la matrice de l'ongle de l'orteil du pied droit, gonflement jusqu'à la cheville avec force douleurs et incapacité de marcher. Je touche la matrice avec un crayon d'aniline, et dès le lendemain, l'amélioration était telle que le malade la qualifiait de foudroyante. La guérison fut complète, l'orteil n'était plus douloureux

même à une forte pression, le pied était complètement dégonflé.

Chez un vieillard de 70 ans dont la jambe gauche était couverte d'ulcères variqueux, qui suppuraient depuis longtemps, je les stérilisai rapidement et les amenai à la guérison en peu de jours. Le malade pouvait marcher dès le troisième jour et bientôt les ulcères commençaient à se cicatriser. »

Après ces faits, concluait Stilling, on ne peut douter que les substances colorantes d'aniline ne soient parfaitement appropriées pour des essais antiseptiques en chirurgie, obstétrique et gynécologique. »

Peu de temps après, M. Moreau, ému par cette communication de Stilling voulait contrôler ses expériences et faisait porter ses essais sur la safranine, la cyanine, le vert malachite et le violet de méthyl. Nous croyons utile de résumer ici la note qu'il publiait le 8 mai 1890.

« Nos premiers essais, disait M. Moreau, ont porté sur la safranine et la cyanine; ces deux corps, solubles dans l'eau alcoolisée, ont une puissance colorante considérable, et nous paraissent jouir d'un grand pouvoir antiseptique.

1° *Safranine.*

Nous avons fait deux solutions de cette substance, l'une au titre de 1 gramme de safranine pour 2500 grammes d'eau aiguisée de 100 grammes d'alcool absolu (solution à 1/2600); l'autre de 1 gramme pour 25000 grammes d'eau alcoolisée (solution au 1/25000). Puis, nous avons addi-

tionné une première série de tubes, renfermant deux centimètres cubes de gélatine peptonisée, de un centimètre cube de la première solution (à 1.2500). Dans ces conditions, le milieu de la culture est très fortement coloré en rouge. Nous y avons inoculé des cultures pures : 1° de microcoques pyogènes ; 2° de bacilles diphtéritiques. Après 8 à 10 jours ces tubes sont restés stériles.

Nous avons procédé de même avec la solution à 1/25000 ; les inoculations, sans rester absolument stériles, comme dans le cas précédent, ne donnent pas, après huit jours, de cultures bien vives. Les moisissures de l'air peuvent s'y développer, mais d'une façon très précaire.

2° *Cyanine.*

Ce corps semble jouir des mêmes propriétés que le précédent. Les solutions ont été faites au même titre et les résultats ont été à peu près identiques. Nous devons noter que les milieux de culture se décolorent assez vite à la lumière, sans perdre cependant leur pouvoir antiseptique.

M. Moreau expérimente ensuite avec le vert malachite et le violet de méthyl. Il a le soin de s'assurer que les couleurs employées ne contiennent pas de traces de phénol ou d'arsenic et fait de chacune d'elles des solutions à trois titres différents, 1/300, 1/2500, 1/25000. Il constate ce qui suit au point de vue de la puissance toxique des couleurs d'aniline.

1° *Safranine*.

Avec une solution au 1/2500, on injecte dans la veine marginale d'une série de lapins des doses variant entre 2 et 6 centimètres cubes par kilogramme d'animal. Trois de ces expériences sur des animaux différents donnent des résultats absolument négatifs, c'est-à-dire que les sujets ne présentent pas de troubles d'aucune sorte.

Avec une solution plus concentrée, à 1/300, à un lapin de 1500 grammes, on injecte 4 centimètres cubes, puis un quart d'heure après 6 centimètres cubes de la solution. Aussitôt, les membres postérieurs de l'animal fléchissent; l'animal marche avec lourdeur si on l'excite. Légère dyspnée. Disparition de ces phénomènes au bout de dix minutes et l'animal urine en rouge. Pas de globules de sang dans l'urine. Une heure après le début de l'expérience, on injecte à nouveau 2 centimètres cubes de la même solution. Il ne se produit aucun phénomène anormal, et quelques instants après l'animal rend une quantité abondante d'urine fortement teintée en rouge. Après deux heures d'expériences, on sacrifie l'animal. A l'autopsie, tous les organes sont fortement colorés; l'intestin est gorgé d'une abondante sérosité rouge et ses parois sont uniformément teintées de même. Les coupes du rein faites après congélation montrent les éléments de la substance corticale teintés en rouge, sans élection nucléaire (la safranine est cependant un réactif nucléaire). La coloration est surtout vive dans les tubes contournés au milieu desquels les glomérules se détachent incolores.

Une seconde expérience sur un lapin donne des résultats analogues avec une néphrite hémorrhagique légère.

Dans une troisième expérience identique aux précédentes on laisse vivre l'animal jusqu'au moment où ses urines ne sont pas colorées. Après cinquante-six heures, on sacrifie l'animal et à l'autopsie on ne trouve plus aucune trace de la matière colorante. L'élimination complète de la safranine semble donc s'être effectué par le filtre rénal en cinquante-six heures.

Des expériences précédentes, M. Moreau conclut que la safranine en solution assez concentrée à 1/300, n'exerce aucune action nocive sur l'organisme des animaux à sang chaud.

Des têtards ont pu rester vivants pendant trois jours dans une solution de safranine au 1/25000.

2° *Cyanine.*

Les solutions ont l'inconvénient de se décolorer à la lumière. Mêmes expériences que précédemment. Injections de 12 centimètres cubes de la solution au 1/300 sur des lapins qui présentent des accidents plus accentués qu'avec la safranine. « Aussi, dit M. G. Sée, la cyanine nous semble devoir être écartée. »

3° *Vert malachite.*

On procède comme avec la safranine ; les animaux supportent des doses beaucoup plus élevées. Sur un lapin de

2500 grammes, MM. G. Sée et Moreau ont pu injecter jusqu'à 25 centimètres cubes d'une solution au 1/300. La matière colorante se diffuse très rapidement dans les tissus, à l'autopsie tous les organes sont fortement teintés en vert; le rein se colore comme avec la safranine. Pas de néphrite hémorrhagique. Élimination complète en quarante-huit à cinquante six heures, et après ce temps, l'animal ne semble nullement incommodé.

4° Violet de méthyl.

Quoique n'opérant pas avec des violets de méthyl absolument purs (ils renfermaient environ un dixième de milligramme d'arsenic par gramme), MM. G. Sée et Moreau n'observent pas un seul accident après leurs injections de douze centimètres cubes de la solution à 1/300 chez un lapin de 1500 grammes.

L'élimination de la matière colorante est moins rapide qu'avec les substances précédentes; elle est complète en deux ou trois jours.

Enfin dans une dernière note, M. Moreau reprenait l'étude des effets bactéricides *in vitro* des couleurs d'aniline et donnait les résultats suivants :

1° Safranine.

Dans une nouvelle série d'expériences, nous avons lavé la surface inclinée de nos gélatines peptonisées avec des solutions au 1/300 et à 1/2500. Dans ces conditions, la sur-

face colorante se diffusait rapidement dans toute l'épaisseur de la gélatine, et celle-ci,ensemencée avec des cultures pures de bacilles diphtéritiques, de micrococcus aureus, etc., etc., est restée absolument stérile après trois semaines. Dans certains cas cependant que nous ne pouvons expliquer, le micrococcus aureus a liquéfié par place la gélatine. Peut-être faut-il tenir compte, à propos de ce fait, de la virulence plus ou moins grande de nos cultures d'origine.

2° *Cyanine.*

Les tubes se décolorent rapidement à la lumière et les substances se développent à peine atténuées. Ce dernier corps ne nous semble donc pas jouir d'une grande puissance antiseptique.

3° *Vert malachite.*

Solutions à 1/300 et à 1/2500, on lave à plusieurs reprises les surfaces inclinées des tubes de gélatine. Celles-ci sontensemencées ensuite avec des cultures pures de micrococcus pyogènes aureus.

Après trois semaines, les tubes restent stériles. Nous mélangeons alors, à parties égales, du bouillon de veau et la solution à 1/2500.

Ces divers bouillons restent stériles, sauf celui qui avait étéensemencé avec l'aureus qui s'y développe, mais d'une manière très atténuée, après trois semaines de culture à une température constante de 37°.

4° *Violet de méthyl.*

Au bout de trois semaines, cultures absolument stériles avec les solutions à 1/300 et à 1/2500, avec les solutions à 1/25000 et à 1/50000, les cultures sont tardives et précaires.

MM. Sée et Moreau ont fait alors avec les dérivés de l'aniline des essais sur les suppurations expérimentales.

1° *Safranine.*

Sur un lapin atteint de péritonite aiguë, on ouvre l'abdomen, et on lave la séreuse avec 5 litres de la solution de safranine au 1/2500 tiédie au bain-marie ; on referme le ventre et on saupoudre la plaie abdominale avec de la poudre d'iodoforme et de salol. Le lendemain, l'animal affaibli ne présente aucun signe d'intoxication et se remet de cette opération au bout d'une dizaine de jours.

Dans d'autres cas, les expérimentateurs ont lavé avec la même solution les cavités d'abcès sous-cutanés chez les cobayes après deux ou trois lavages successifs, la cavité ne tardait pas à se cicatriser.

2° *Cyanine.*

On ne l'a pas essayée à cause de son faible pouvoir antiseptique.

3° Vert malachite et violet de méthyl.

Ces deux substances employées en lavages au titre de 1/2500 dans les abcès sous-cutanés, ont donné à MM. Sée et Moreau les mêmes résultats que la safranine.

Encouragé par ces expériences, M. G. Sée tente dans son service les applications thérapeutiques des nouveaux antiseptiques et publie les observations suivantes :

Chez une jeune femme ayant eu un phlegmon péri-utérin ouvert spontanément dans le rectum, et l'évacuation du puñ se faisant mal, on avait été obligé de donner à ce dernier une nouvelle issue en incisant un des culs-de-sac vaginaux. La température du soir oscillait entre 38° et 38°,5 ; on se décida à faire, le jour même de l'opération, des lavages avec la solution de safranine à 1/2500. Le soir, la température tombe à 37°, on renouvelle les injections pendant trois jours, et la suppuration ne tarde pas à se tarir.

Jeune homme de 15 ans. Amygdalite avec suppuration des cryptes amygdaliennes, on touche par deux fois les amygdales avec un tampon de ouate imbibé d'une solution de vert malachite à 1/2500. Dans l'intervalle, le malade se gargarisait avec de l'eau de guimauve. Guérison.

MM. G. Sée et Moreau n'ont pas eu l'occasion d'employer le violet de méthyl.

Ils tiraient immédiatement de leurs travaux ces conclusions :

« Les couleurs d'aniline, de la série aromatique, ne sont pas toxiques, pourvu qu'elles soient privées de phénol et d'arsenic.

Elles jouissent d'un pouvoir antiseptique variable, les plus puissantes sont : les violets de méthyl, le vert malachite, la safranine.

En solutions très étendues, 1/2500, elles modifient favorablement les suppurations et peuvent même les prévenir. »

La valeur des couleurs d'aniline semblant bien démontrée par les travaux de MM. Stilling, G. Sée et Moreau, M. le professeur Panas ne tarda pas à les expérimenter dans son service, et, il faut le reconnaître, son enthousiasme ne fut pas aussi grand pour ces nouveaux antiseptiques que celui de ses devanciers. Les observations suivantes, résumées, sont consignées par M. Noguès, interne du service, dans « *la Médecine moderne* » du 21 août 1890.

OBSERVATION I

Jeune homme de 23 ans, blennorrhagie récente, atteint depuis quatre jours d'une double conjonctivite intense, avec sécrétion abondante et chémosis surtout marqué à gauche. Le pus contient des gonocoques en abondance. Deux applications quotidiennes du violet Poirier à 1/1000 sont faites à l'aide d'un gros pinceau que l'on laisse séjourner quelques instants dans les culs-de-sac. Une amélioration est manifeste dès le deuxième jour et la guérison est complète le quatrième.

OBSERVATION II

Femme de 20 ans, ophthalmie purulente avec sécrétion abondante de gonocoques, œdème des deux paupières supérieures,

ulcération peu étendue, mais très profonde de la cornée droite. Scarifications et lavages trois fois par jour avec des solutions de violet Cogit et Poirier; les symptômes s'amendent rapidement, sauf l'œdème palpébral qui reste le même. Au dixième jour, douleurs et photophobie, on supprime la médication et on la remplace par le nitrate d'argent. Le malade guérit.

OBSERVATION III

Enfant de six semaines, ophtalmie double, œil gauche perdu, cornée droite ulcérée. Lavage avec du violet à 1/1000. La sécrétion diminue. Au sixième jour, la conjonctive palpébrale gardant un aspect fongueux, nous la touchons avec du nitrate d'argent qui assure la guérison.

OBSERVATION IV

Enfant de vingt-deux jours, dont les yeux ont commencé à couler depuis 4 jours. Le pus ne contient pas de gonocoques, mais il est rempli de fins bâtonnets. Lavages avec la solution de violet au 1/1000, amélioration très rapide. Mais le huitième jour, on constate à la partie inférieure de la cornée droite une petite ulcération que M. Panas attribue à l'action irritante de la matière colorante. Nitrate d'argent, guérison.

OBSERVATION V

Observation analogue d'un enfant de 6 mois atteint depuis quinze jours d'ophtalmie double avec sécrétion muco-purulente, sans gonocoques. Lavage au méthyl violet pendant quatre jours,

mais les conjonctives restant fongueuses, nous les touchons avec le nitrate d'argent. Guérison.

OBSERVATION VI

Femme de 32 ans, avec traces anciennes de strume, atteinte depuis trois semaines d'une forme bizarre de conjonctivite à exsudats pseudo-membraneux, peut-être de nature tuberculeuse. Il existe à la partie supéro-interne du limbe scléro-cornéen droit une ulcération profonde qui est traitée par le méthyl violet à 1/2000 et qui marche rapidement vers la guérison.

« C'est surtout dans les kératites, dit M. Noguès, que la supériorité de l'antiseptique en question semble s'affirmer ».

OBSERVATION VII

Une jeune fille de 13 ans est atteinte de photophobie et de larmoiement des yeux ; à droite, on trouve sur la cornée une ulcération centrale assez superficielle ; à gauche, une nouvelle ulcération plus étendue siégeant à la partie inférieure du limbe scléro-cornéen. Lavages bi-quotidiens avec la solution de violet ; au sixième jour, nous la remplaçons par la pyoktanine qui est bien tolérée. Aujourd'hui, la malade est presque entièrement guérie.

Dans le traitement des granulations, nous avons constaté que les solutions au 1/1000 irritaient les yeux qui en étaient atteints.

Les solutions à 1,2000 sont mieux tolérées : par leur emploi, on arrive à une légère diminution de l'inflammation et de la douleur.

Mais objectivement, l'aspect de la paupière et des granulations ne change pas.

Reste enfin deux observations qui pour être isolées n'en sont pas moins intéressantes.

OBSERVATION VIII

Une femme de 42 ans est atteinte depuis trois jours d'un phlegmon du sac lacrymal avec gonflement énorme de la zone faisant croire à un érysipèle. Débridement du sac, issue d'une grande quantité de pus. Injection dans le sac de violet au 1/1000, remplacé au quatrième jour par de la pyoktanine. La sécrétion purulente a été tarie avec une promptitude remarquable, et bien que le canal nasal ne soit pas perméable, il ne reste plus aujourd'hui qu'une petite fistule.

Enfin, un homme de 83 ans, est opéré à l'œil droit d'une cataracte sénile. Le lendemain, douleurs assez vives. On défait le pansement, et on trouve un très léger œdème de la paupière supérieure avec rougeur de la conjonctive ; la chambre antérieure s'était reformée, mais n'avait pas la transparence habituelle, et en somme, il y avait tout lieu de redouter la formation d'une iritis plastique. Une seule application de quelques gouttes de méthyl violet au 1/1000 sur la conjonctive a suffi pour arrêter ces accidents. La cicatrisation a évolué rapidement, et le malade est sorti avec un résultat optique parfait.

« Donc, concluait M. Noguès, les solutions des divers méthyls violets dont nous nous sommes servis sont d'un

emploi facile et exempt de danger. Elles paraissent remplir toutes les conditions d'un bon antiseptique dans toutes les suppurations de la conjonctive et dans toutes les affections inflammatoires de la cornée; elles paraissent moins actives dans le traitement des granulations. »

L'emploi des couleurs d'aniline commença dès lors à se généraliser, en dehors même de l'ophtalmologie.

OBSERVATION IX

Le 18 février 1891, Mosetig-Moorof dans différentes communications *Zur Behandlung nicht operabler besartiger Neubildungen*. *Wiener medicinische Presse*, n° 26, p. 216), rapportait les excellents résultats qu'il aurait obtenus en traitant les tumeurs malignes par des injections interstitielles de pyoktanine. Il rappelle un certain nombre de sarcomes et d'épithéliomas ganglionnaires dans lesquels il aurait obtenu par ce moyen soit la guérison totale du néoplasme, soit une amélioration considérable. Le procédé consiste à badigeonner les tumeurs ulcérées, et à y faire des injections interstitielles tous les deux ou trois jours d'une solution de violet de méthyl à 1/300 par doses de 3 grammes de solution.

M. le professeur Le Dentu, se basant sur les faits curieux rapportés par Stilling d'abord, par Mosetig-Moorof ensuite, essayait aussitôt dans son service les injections avec le violet de méthyl et n'en obtenait aucun résultat satisfaisant, comme on pourra le voir par les observations suivantes, résumées, qu'il lut à la séance de la *Société de chirurgie*, du 29 avril 1891.

OBSERVATION X

Petit épithélioma de la lèvre chez un homme de 52 ans. Badigeonnages de pyoktanine à 1/100 et en quinze jours, quatre injections interstitielles de 2 centimètres cubes de solution au même titre.

Injections douloureuses. L'ulcération n'a subi aucune modification, si ce n'est qu'elle s'est étendue. Extirpation au bistouri le 4 avril.

OBSERVATION XI

Épithélioma de la lèvre inférieure.

Homme de 64 ans. Badigeonnages répétés 3 fois par jour de pyoktanine au 1/300. L'ulcération diminue d'abord, puis augmente. Badigeonnage à 1/100, puis injection de 2 cent. cubes de la solution au 1/100. Aucune amélioration, extirpation au bistouri.

OBSERVATION XII

Cancroïde de la face.

Homme de 65 ans. Pendant 17 jours, le malade est traité par des injections de pyoktanine au 1/100. Aucun résultat. L'ulcération s'est étendue. Extirpation au bistouri.

OBSERVATION XIII

Homme de 59 ans, atteint d'épithélioma primitif des ganglions sous-maxillaires ulcéré. Injections interstitielles répétées tous les

deux jours d'une solution de pyoktanine au 1/300 et badigeonnages deux fois par jour avec la même solution. Six jours après on fait des injections au 1/100. La tumeur et l'ulcération, toujours végétantes, se sont étendues au point d'avoir doublé de volume ; la mastication est gênée, la malade s'est considérablement affaiblie.

OBSERVATION XIV

Jeune homme de 35 ans, atteint d'épithélioma étendu de la langue avec dégénérescence des ganglions sous-maxillaires et sternomastoïdiens du côté droit. Badigeonnages 5 fois par jour de l'ulcération linguale avec une solution de pyoktanine à 1/300. Ces badigeonnages sont bien supportés et diminuent un peu l'abondance de la sécrétion et la fétidité de la bouche. Des essais de badigeonnages avec la solution à 1/100 sont mal supportés. Quatre fois, à trois jours d'intervalle, injections interstitielles de 6 grammes de pyoktanine en trois injections, à savoir 2 grammes par injection. Un ramollissement menaçant s'étant produit, il fallut s'arrêter. La cachexie a marché de plus belle, la mort est imminente.

MM. Richelot, Reclus et Bazy ont tous essayé la pyoktanine, et les résultats qu'ils en ont obtenus sont aussi peu encourageants que ceux de M. Le Dentu.

Enfin, deux malades atteints de blennorrhagie et traités dans le service de M. Heurteloup par des injections de violet de gentiane à 1/2000 n'ont pas été améliorés.

Nous donnons après ces observateurs, le résultat de nos recherches personnelles sur les dérivés de l'aniline.

II

Nos expériences ont porté sur six dérivés de l'aniline dont quelques-uns n'avaient pas encore été étudiés par nos devanciers. et nous avons examiné leur action sur quelques bacilles bien connus, tels que le staphylococcus pyogenes aureus, le bacillus coli communis, le bacille typhique et le gonococcus.

Les dérivés d'aniline que nous avons employés pour nos recherches sont :

Le Violet de gentiane.

La Pyoktanine.

La Fuchsine.

La Safranine.

L'Eosine.

La Vésuvine.

Les deux premières seules donnent des colorations violettes; les autres, des colorations allant du rouge au jaune.

Les solutions de nos substances colorantes sont faites avec de l'eau stérilisée et sont ainsi titrées :

Pour une solution au 1/100 :

Matière colorante	1	gramme	
Alcool	—	4	—
Eau	—	95	—

Nous faisons de même des solutions à 1/500 et à 1/2000.

Il était intéressant tout d'abord de voir comment se comporteraient nos diverses solutions vis-à-vis des micro-organismes de l'atmosphère. Nous colorons des tubes de gélatine peptonisée et stérilisée avec nos solutions à 1/2000 et au 1/500 et nous les laissons exposés quelques instants à l'air libre.

Nous les bouchons ensuite avec des tampons de ouate. Les bactéries croissent avec assez de rapidité et au bout de huit jours nous pouvons faire les remarques suivantes :

Solutions à 1/2000.

Violet de gentiane. — Le tiers supérieur de la gélatine est rapidement liquéfié ; de nombreuses colonies viennent se déposer au niveau de la gélatine restée solide.

Pyoklanine. — Au bout de trois semaines aucun micro-organisme n'a pu se développer.

Fuchsine. — La gélatine est presque entièrement liquéfiée et les colonies se développent jusqu'au fond du tube.

Safranine. — Le tiers supérieur de la gélatine a été liquéfié en vingt-quatre heures ; des micro-organismes en quantité considérable se sont disposés à la surface de la gélatine et des colonies nombreuses sont disséminées dans la masse.

Eosine. — Deux colonies superficielles se développent assez tardivement.

Vésuvine. — Quelques colonies superficielles.

Solutions à 1/500.

Violet de gentiane. — Pas de micro-organisme dans le tube coloré.

Pyoktanine. — Aucune colonie.

Fuch sine. — Des moisissures se sont déposées à la surface de la gélatine, sans toutefois arriver à la liquéfier.

Safranine. — Pas de colonies.

Eosine. — On ne pouvait rien apercevoir le trentième jour.

Vésuvine. — Moisissures en grand nombre.

On voit donc que si nos solutions à 1/2000, la pyoktanine exceptée, sont insuffisantes pour arrêter le développement des germes de l'air, il n'en est plus de même pour nos solutions à 1/500 qui, sauf la fuschine et la vésuvine, enrayent rapidement leur évolution. Les couleurs les plus résistantes ont été la pyoktanine, l'éosine et le violet de gentiane.

Nous allons montrer maintenant comment nos diverses solutions se comportent vis-à-vis des microbes particuliers que nous voulons étudier.

Pour faire nos expériences dans les meilleures conditions possibles, nous soumettons par deux fois une série de tubes contenant 10 centimètres cubes de gélatine peptonisée à l'autoclave de Chamberland, en les laissant pendant dix minutes à la température de 120°. Ces tubes étant ainsi stérilisés, nous les colorons avec 4 gouttes de chacune de nos solutions (1/100, 1/500, 1/2000), ces solu-

tions ayant été préalablement portées à l'ébullition et débarrassées par conséquent de tout germe étranger; de cette façon aussi, l'alcool évaporé, n'aura pu avoir aucune influence sur nos cultures. La matière colorante diffuse rapidement dans toute la gélatine. Nous laissons refroidir ces tubes inclinés et hermétiquement bouchés et nous commençons alors nos cultures après nous être assurés par toutes ces précautions de n'opérer que dans un milieu parfaitement stérilisé. Nous faisons nos inoculations en strie partant d'une légère piqûre faite à la surface de la gélatine.

B. — *Coli Communis*.

On sait que Escherich a trouvé le *B. coli communis* dans les selles de nourrissons ou d'enfants nourris de lait; depuis il a été signalé comme une des espèces constantes de l'intestin de l'homme et des animaux. D'après Huppe, il est très abondant dans les selles d'individus atteints de cholérine; cette bactérie se rencontre fréquemment dans les eaux. Elle y provient peut-être de la contamination par matières fécales.

Nos cultures dans les matières colorantes se montraient déjà au bout de 24 heures, nos tubes restant à une température de 20°.

Violet de gentiane 1/100. — Pas de cultures au bout de 30 jours 11/500.

Le microbe ne se développe pas davantage que dans la solution à 1.2000.

Pyoktanine. — Les cultures ne se développent dans aucune des trois solutions.

Fuchsine, 1/100. — Les colonies forment une dizaine de petits îlots isolés, gros comme une tête d'épingle,

1/500. — Trainée unique, d'aspect butyreux, étalée, à bords sinueux, dentelés. La ligne d'ensemencement est interrompue en plusieurs endroits; elle semble composée de colonies qui se sont fondues et réunies les unes aux autres. Le développement est assez intense. L'aspect de la trainée est différente de la culture sur l'éosine au 1/500.

1/2000. — On ne peut plus reconnaître dans la trainée la forme des îlots primitifs; la culture est vigoureuse, rosée par transparence.

Safranine, 11.100. — Îlots réunis en une seule trainée ondulée, formant un léger relief, transparente vue de face, et d'un jaune verdâtre vue de côté.

1/500. — La trainée n'est pas étalée; elle est superficielle, uniforme, d'un aspect humide. En somme, culture vigoureuse; on n'aperçoit pas de colonies distinctes.

1/2000. — Bonne culture, d'un aspect humide, boursofflée, assez homogène; on peut néanmoins compter le nombre des colonies.

Eosine, 1/100. — Trois longues trainées formées d'îlots réunis, semblables à de petits tubercules miliaires. 2 ou 3 petits îlots isolés, rouges par transparence.

1/500. — Trainée grêle à colonies distinctes, espacées, peu vigoureuses, en forme de cratère, d'aspect assez étalé, culture assez maigre.

1/2000. — Belle culture, très vigoureuse.

Vésuvine 1/100. — On voit à la surface de la gélatine cinq petits disques ayant 2 à 3 millimètres de diamètre à la file, ils sont nuageux par transparence.

1/500. — Nous retrouvons ici ces mêmes petits disques rayonnés; ils sont très étalés et offrent la même transparence nuageuse.

1/2000. — Les colonies sont distinctes, étalées, à bords sinueux; elles sont bleuâtres par transparence; en somme, même aspect que dans la solution au 1/500.

Le *B. Coli communis* ne peut donc plus se cultiver dans nos gélatines colorées avec nos solutions de violet de gentiane et de pyoktanine au 1/2000. Il n'a pas pu se développer dans des solutions au 1/5000. Les solutions au 1/100 de ces autres matières colorantes semblent être peu défavorables au développement de ce bacille, quelle que soit la température à laquelle on soumette les tubes de gélatine et le temps qu'on les y laisse. Nous considérons ce caractère comme bon pour faire le diagnostic différentiel entre le bacille typhique et le *B. Coli communis*.

Cultures sur pomme de terre. — Le *B. coli communis* se développe très bien de la pomme de terre colorée avec les couleurs d'aniline, même avec le violet de gentiane et la pyoktanine. Mais dans ce cas, la culture au début est très lente, à un moment donné, le sillon, au lieu de s'étaler, gagne en hauteur et forme un bourrelet très sensible, butyreux et incolore. Il est probable que si on pouvait ensemer la pomme de terre colorée sans en érailler la surface, le *B. coli communis* se développerait très difficilement.

Culture dans le bouillon. — Le *B. coli communis* se développe assez bien dans du bouillon additionné de diverses matières colorantes. Les divers auteurs qui ont décrit le *B. coli communis* disent qu'aucune des cultures ne

produit de spores. M. Fred Bordas est parvenu à mettre ces spores en évidence et à les colorer grâce à l'artifice de préparation suivant : si, dans un ballon de bouillon coloré au violet de gentiane, par exemple, on ensemence du *B. coli* communis, la matière colorante prise par les bacilles est absorbée par le plasma, et l'enveloppe du bacille n'est pas colorée, phénomène analogue à celui qui se passe chez les protozoaires au contact du carmin.

Les bacilles étant ainsi colorés intérieurement, si on fait une préparation microscopique et qu'on la colore avec une solution dans de l'eau de fuchsine, on distinguera nettement les spores à l'intérieur du *B. coli* communis. Si on se servait d'une solution alcoolique de fuchsine, la coloration de l'enveloppe serait trop intense et masquerait la coloration de l'intérieur de la cellule.

STAPHYLOCOCCUS PYOGENES AUREUS.

C'est un des microbes de la suppuration découvert par Pasteur dans le furoncle et dans l'ostéomyélite. Son caractère pyogène a été bien mis en évidence par les expériences de Straus. Ensemence dans du bouillon cette espèce le trouble très rapidement à 30°; il se forme au fond du ballon un dépôt peu abondant, d'abord blanc, puis jaunâtre.

Le liquide reste toujours trouble. En culture sur plaques, il donne au bout de 48 heures, à une température de 18°-20°, de petites colonies rondes, grisâtres, qui apparaissent, à un faible grossissement comme des petits disques

d'un brun jaune clair à la lumière transmise et d'un beau jaune d'or brillant sur fond noir; le contenu en est granuleux et les bords très nets. La colonie s'étend peu à peu, et en quatre ou cinq jours, elle est formée d'une partie centrale foncée, opaque, qui représente la colonie primitive et d'une zone annulaire formée de gélatine liquéfiée, trouble. La liquéfaction s'étend et produit bientôt dans la gélatine un large creux contenant un liquide trouble, parfois légèrement jaunâtre. Sur gélose en strie, il se forme d'abord, le long de la ligne d'inoculation de petites colonies blanches qui confluent bientôt et forment une bande mince et lisse, se colorant en jaune orange, rappelant assez bien un large trait de couleur à l'huile de cette nuance. La culture peut continuer à croître pendant longtemps. On obtient au bout de quelques semaines une épaisse culture, d'apparence grumeleuse, d'un jaune orangé brillant, dont les bords ondulés peuvent être blanchâtres. En vieillissant, la partie centrale devient mamelonnée, ou est partagée par des sillons longitudinaux.

Violet de gentiane, 1/100. — Les colonies ne se développent pas au bout de quinze jours.

1/500. — Petites colonies le long de la traînée d'inoculation.

1/2000. — Belle colonie s'étendant en une longue bande à la surface de la gélatine. L'intérieur de celle-ci n'est pas troublé et on ne remarque pas de tendance à la liquéfaction.

Pyoktanine, 1.100. — Légère traînée régulière, le long de la ligne d'inoculation, presque imperceptible.

1/500. — Belle colonie, granuleuse par places, laiteuse en d'autres.

1/2000. — La colonie s'étend longuement à la surface de la gélatine. Le bacille se développe cependant moins rapidement qu'avec la même solution de violet de gentiane.

Fuchsine, 1/100. — Belle colonie régulière, large de 3 à 4 millimètres dans tout le tube. Aspect vivace, granuleux, d'un beau grenat par transparence.

1/500. — Colonies très vivaces.

1/2000. — Belles colonies, mais dont le développement a été cependant moins rapide que dans le violet de gentiane au même titre.

Safranine, 1/100. — Colonie régulière, continue, formant une légère surélévation, un peu butyreuse.

1/500. — Colonies très vigoureuses.

1/2000. — Belle trainée communiquant à la surface de la gélatine une teinte d'un jaune verdâtre fluorescent.

Eosine, 1/100. — Comme pour la safranine.

1/500. — Vigoureuse colonie commençant à liquéfier la gélatine au bout de 48 heures.

1/2000. — La liquéfaction est plus avancée que dans la solution précédente.

Vésuvine, 1/100. — Colonie régulière, formant un léger relief, d'aspect butyreux.

1/500. — Les colonies en 48 heures commencent à liquéfier la gélatine.

1/2000. — Colonies abondantes, liquéfaction très prononcée. Le staphylococcus *aureus* qui liquéfie si rapidement la gélatine pure, n'a pu liquéfier que nos tubes de gélatine colorés avec nos solutions d'éosine et de vésuvine au 1/2000 et au 1/500. C'est la pyoktanine qui nous a semblé en arrêter le mieux le développement dans les solutions

au 1/500. En solutions plus étendues, le violet de gentiane lui oppose moins de résistance.

GONOCOCCUS.

Neisser a montré la constance de cette espèce de micrococcus dans la blennorrhagie et l'ophthalmie blennorrhagique. Le gonococcus se colore parfaitement avec toutes les couleurs d'aniline, et contrairement à l'opinion de Roux (de Lyon) qui donnait comme caractère spécifique la décoloration par la méthode de Gram., MM. Vibert et Bordas ont fait voir que ce caractère était commun à d'autres cocci, et en particulier, à ceux que l'on rencontre dans les vulvites chez les petites filles. En inoculant en strie un tube de gélatine avec une petite quantité de pus et en le maintenant à 35°, on voit après la vingtième heure, les gouttelettes de pus devenir friables ; les globules de pus et les cellules épithéliales subissent une désagrégation : les premiers contiennent presque tous des microoccus qui ont déjà pullulé, ce n'est bientôt plus qu'un magma granuleux, parsemé de microcoques. Il se forme autour, vers la trentième heure, une aréole mince, claire, transparente qui s'élargit et atteint 3 à 4 millimètres à la fin du troisième jour. Au dixième jour, la culture mesure 1 cent. de long environ ; elle a un aspect vernissé, luisant, plutôt sec qu'humide. Au bout de trois semaines, elle atteint 3 centimètres et montre sur ses bords de petits mamelons transparents, puis elle reste stationnaire, se dessèche et se fendille. Cette culture n'est pas visqueuse, mais granuleuse et friable. Sa

vitalité diminue rapidement, on n'obtient plus rien de la quatrième culture.

Nous plaçons nos tubesensemencés dans l'étuve 40°. Dix huit heures après, à l'exception des solutions de pyoktanine et de fuchsine à 1/100, tous nos tubes étaient plus ou moins troublés par les colonies qui s'y étaient développées. Au bout de 48 heures nous les retirons de l'étuve et nous pouvons faire les constatations suivantes :

Violet de gentiane au 1/100. — Les tubes examinés au bout de quinze jours ne montrent pas de colonies. Un seul gros nuage rempli de colonies à l'intérieur du tube. Pas de liquéfaction.

1/2000. — Nombreux petits nuages dans toute la gélatine. Ils sont d'un violet opalescent par transparence et ne s'évalent pas à la surface.

Pyoktanine, 1/100. — Pas de colonies.

1/500. — Nuages légers, très transparents.

1/2000. — Les nuages et les colonies, grosses comme de petites têtes d'épingle sont très abondantes et occupent la partie supérieure du tube.

Fuchsine. 1-100. — Les colonies occupent toute la gélatine colorée.

1/500. — Belles colonies, dans toute la masse.

1/2000. — Comme dans la solution à 1/500.

Safranine, 1-100. — Petits nuages et colonies.

1/500. — Les nuages restent au fond du tube ; toute la masse de gélatine jusqu'à la surface est remplie de colonies de gonocoques ; mais celles-ci ne se montrent pas à la surface.

1/2000. — Nuages et colonies dans tout le tube ; ils vien-

nent s'étaler à la surface, où ils prennent le même aspect que dans la vésuvine à 1-500. Pas de liquéfaction.

Eosine. 1/100. — Nombreuses colonies formant un piqueté rose dans la gélatine, les nuages occupent le fond du tube.

1/500. — Même aspect que dans la safranine à 1/500.

1/2000. — Colonies nombreuses et nuages dans la moitié supérieure de la gélatine qui est trouble par transparence. Toute la surface libre de la gélatine est remplie de colonies en taches, sans forme bien précise.

Pas de liquéfaction.

Vésuvine, 1/100. — Nombreuses colonies à la surface, nuages amassés dans le fond du tube, masse trouble par transparence.

1/500. — Nuages au fond du tube, colonies très vivaces à la surface. Environ 2 millimètres de gélatine liquifiée formant comme des plaques d'un blanc laiteux, ponctuées, rondes et réunies.

1/2000. — Comme dans la solution à 1/500. La liquéfaction est encore plus étendue.

Aucune de nos solutions n'a donc empêché le développement du gonocoque; les cultures ont progressé rapidement dans tous les tubes. Seules, les solutions de violet de gentiane et de pyoktanine à 1/100 se sont montrées réfractaires.

BACILLUS TYPHOSUS

Le bacille typhique décrit par Eberth d'abord, par Gaffky, Chantemesse et Widal ensuite, se cultive aisément sur

les milieux habituels. Le développement se fait bien à basse température ; l'optimum serait, d'après Chantemesse et Widal, de 25° à 35°. En culture sur plaques de gélatine, les colonies apparaissent de 24 à 48 heures comme de petits disques arrondis, transparents, de teinte légèrement jaunâtre, à bords nets. (Comme l'ont fait voir MM. Ogier et Bordas, le bacille typhique n'est pas un anaérobie facultatif, mais bien un aérobie). En augmentant de diamètre, elles montrent souvent des sillons, bien marqués et réguliers, fragmentant la surface de la périphérie vers le centre, en secteurs inégaux. Les colonies qui restent dans l'intérieur de la gelée se développent peu. Celles qui arrivent à la surface changent très vite d'aspect. Elles s'y étalent en petits amas irréguliers, minces, bleuâtres, transparents. Ce sont de petits amas hyalins, à bords minces, sinueux, présentant parfois de véritables golfes, dont le centre plus élevé est un peu plus opaque. La gélatine n'est pas liquéfiée ; les colonies n'atteignent jamais un grand développement. Dans les cultures en strie, c'est tantôt une mince couche homogène, bleuâtre, presque transparente, un peu laiteuse, à bords sinueux, ne s'étendant que peu de chaque côté de la strie, tantôt une culture d'un blanc sale, plus épaisse ; les cultures ne dégagent jamais d'odeur. Le bacille typhique n'absorbe pas d'une manière très intense les couleurs d'aniline.

Violet de gentiane 1/100. — Pas plus de développement que dans les solutions à 1/500 et à 1/2000.

Pyoktanine. — Le bacille typhique ne se développe dans aucune de nos trois solutions.

Fuchsine. — Pas de développement dans les deux premières solutions, un léger trouble dans la gélatine.

1/2000. — De fines granulations commencent dès la 48^e heure à se montrer le long des stries d'inoculation. Elles sont en trainées continues formant à l'œil nu un léger brouillard, mais nettement distinctes à la loupe. Les contours en sont irréguliers, légèrement creusés de places en places.

Safranine 1/100. — Rien, qu'un léger trouble dans la gélatine.

1/500. — Légère trainée de colonies, ressemblant par transparence à un filament de coton. Elle est composée de fines granulations difficilement développées, à l'intérieur de la gélatine ; au niveau de la piqûre initiale, il ne s'est absolument rien produit.

1/2000. — Colonies étalées le long des stries d'inoculation, bien plus accentuées que dans la solution précédente. Au niveau de la piqûre, les bacilles ont formé une culture en forme de pointe s'enfonçant un peu dans la gélatine, mais sans aucune tendance à s'engager dans l'intérieur de la masse. Ces colonies sont couleur lie de vin par transparence.

Eosine 1/100. — Le long des stries, trainées ininterrompues de fines granulations. A l'intérieur de la gélatine, au niveau de la piqûre, cône de un cent. de profondeur faisant suite aux trainées superficielles. Ces colonies paraissent se développer lentement et très difficilement.

1/500. — Cultures très nettes, très accentuées avec clou de granulations s'enfonçant dans la gélatine. Quand il y a deux stries rapprochées les granulations se confondent. Assez régulières à l'œil nu, on voit nettement à la loupe

les granulations qui rendent cette trainée dentelée. Elle est rosée par transparence.

1/2000. — Belles colonies très vigoureuses, formant des trainées régulières étendues en surface, d'une largeur variant de 1 à 5 millimètres. Par transparence, couleur vieux rose avec reflets rouges.

Vésuvine 1/100. — Culture très belle. A l'œil nu, les granulations ressemblent à de longs filaments enchevêtrés, sans épaisseur, laiteux par transparence. A la fin de la strie d'inoculation, on peut voir une sorte de pinceau que l'on reconnaît à la loupe comme formé d'un amas de fines granulations de bacilles typhiques.

1/500. — Longue trainée d'un blanc laiteux, régulière, ayant environ 2 à 3 millimètres de largeur et sans aucune tendance à pénétrer dans la gélatine.

1/2000. — Longues trainées étalées suivant les stries d'inoculation. Les granulations très régulières, sont d'une finesse extrême, d'une teinte jaune sale. Absolument rien dans la masse de la gélatine.

M. Bordas avait fait avant nous sur le bacille typhique des expériences avec le brun de Bismark, le vert malachite et le bleu de méthyl. Le violet de gentiane et la pyoktanine seuls lui avaient donné des résultats favorables. Tous les tubes de gélatine qui avaient été additionnés des solutions légèrement alcooliques des matières colorantes ci-dessus (l'alcool ayant été évaporé par ébullition) ont donné des cultures. Quand les solutions étaient concentrées, avec l'éosine et la fuchsine, la matière colorante était absorbée par les bacilles, et la trainée d'ensemencement était beaucoup plus colorée que les milieux de culture.

Néanmoins, si on fait une préparation micrographique avec les bacilles provenant par exemple de la solution de fuchsine, la matière colorante fixée par les bacilles est insuffisante pour que ces derniers soient nettement visibles au microscope.

Dans les solutions de violet de gentiane très étendues 1/20000, le bacille typhique se développe très mal. Il ne se forme sur la traînée d'ensemencement qu'une ou deux colonies. Alors, ces colonies poussent très lentement et prennent la forme d'une brioche ; *elles sont uniquement composées de bacilles longs, flexueux, filamenteux, en broussailles, très semblables aux filaments de la bactérie charbonneuse ; ils sont immobiles.* Transportés sur pomme de terre, ces longs filaments produisent des articles plus courts et perdent ces caractères filamenteux que nous venons de signaler. Dans ce cas, les bacilles sont mobiles.

Culture sur pomme de terre. — On prépare ces cultures de la façon suivante : on coupe un cube de pomme de terre, on le trempe pendant quelques minutes dans la solution colorante à étudier ; puis on le lave à l'eau distillée jusqu'à ce que cette eau ne soit plus colorée. Le fragment de pomme de terre est ensuite mis dans un tube spécial et stérilisé à l'autoclave. Si donc, sur une pomme de terre ainsi préparée et colorée avec la fuchsine rouge, on fait un ensemencement de B. typhique, il se développe assez bien. La traînée est humide, s'étale, et est moins colorée que le milieu de culture. L'expérience donne les mêmes résultats sur la pomme de terre colorée avec le violet de gentiane. Les bacilles dans les deux cas sont analogues à ceux qui

poussent sur la pomme de terre non colorée, c'est-à-dire, en articles plus ou moins longs et mobiles.

Si par un trait horizontal, fait dans l'expérience précédente, à notre pomme de terre colorée, nous enlevons une partie de la surface qui a été au contact de la matière colorante, nous avons alors sur le même cube végétal une section colorée et une autre non colorée. Nous faisons alors un sillon d'ensemencement moitié sur chaque section, et nous pouvons observer une différence très nette dans l'aspect de la culture. La culture faite sur la partie colorée offre le même aspect de celui décrit plus haut, tandis que sur l'autre partie, la culture est plus épaisse, plissée, chagrinée, et s'étale sur toute la pomme de terre (que la pomme de terre soit teinte au violet de gentiane ou à la fuchsine, le résultat est identique).

Cultures sur bouillon. — Les cultures faites dans les bouillons colorés avec nos dérivés d'aniline, quel que soit le titre des solutions, se développent comme s'il n'y avait aucune matière colorante. Lorsque cette dose est faible (2 à 3 gouttes de solution alcoolique concentrée de fuchsine ou de violet de gentiane), les bacilles typhiques absorbent toute la matière colorante et le liquide devient clair. Ces bacilles sont longs, flexueux, un peu moins cependant que dans de la gélatine colorée, mais beaucoup plus que sur la pomme de terre, normalement.

Dans ce cas, ils sont immobiles ; il n'y a guère que quelques bâtonnets courts, provenant probablement de la rupture des filaments, qui soient mobiles. On ne trouve ces bacilles longs et flexueux que si l'on a placé les ballons de bouillon à l'abri de toute agitation. Ce caractère est inté-

ressant et ne se retrouve pas dans les ballons du bouillon ne contenant pas de matière colorante. Il semble donc bien que le violet de gentiane amène une modification dans la morphobiologie du bacille d'Eberth. On peut concevoir jusqu'à un certain point que ce bacille se développe plus facilement dans un milieu de culture liquide où il se trouve plus en contact avec le milieu nutritif que sur la gélatine. Les bacilles colorées comme nous l'avons dit plus haut, ne le sont cependant pas suffisamment pour être facilement vus au microscope, sans réactif. On peut faire pour le *B. typhique* la même préparation que celle indiquée par M. Bordas pour le *B. Coli communis* et distinguer ainsi les spores à l'intérieur du microorganisme. Dans des cultures anciennes de bacille typhique dans des solutions très faibles de fuchsine, on voit au bout de 25 à 30 jours des bâtonnets sans mouvement et ne possédant à leur intérieur aucune granulation. Mais, par contre, on trouve dans les préparations microscopiques une quantité très considérable de spores colorées et animées de mouvements amiboïdes. Nous pensons, avec M. Bordas, que ces bâtonnets sans matière colorante interne sont de véritables gaines privées de leurs spores.

Nos dernières études ont porté sur le

BACILLUS FLUORESCENS PUTIDUS.

Bactérie abondante dans toutes les putréfactions, très commune dans l'eau et dans les couches supérieures du sol. Elle ne liquéfie pas la gélatine sur laquelle elle croît.

Le vert fluorescent se développe sur des tubes de géla-

tine colorée absolument comme s'il n'y avait pas de matière colorante ; la présence de la fuchsine ou de la pyoktanine ne nuit en rien non seulement à son développement mais encore au phénomène physico-chimique de sa nutrition, car on remarque que dans des cultures datant de quinze jours au moins la fluorescence est tout aussi active. Notons en passant que ce phénomène de la fluorescence n'a pas lieu lorsque les cultures sont faites à l'abri de l'air.

Dans des tubes de gélatineensemencés avec du vert fluorescent, la fluorescence commence toujours par la partie au contact de l'air pour se diffuser ensuite dans tout le milieu.

III

D'après ces nombreuses expériences, deux des couleurs d'aniline que nous avons employées nous ont paru jouir d'un véritable pouvoir antiseptique : le violet de gentiane et la pyoktanine. En solutions concentrées 1/100, elles ont empêché le développement de tous les micro-organismes sur lesquels nous avons fait porter leur action; en solution à 1/2000 et à 1/500, elles ont arrêté les cultures du *B. coli communis* et du bacille typhique.

Sauf pour le bacille typhique qui ne peut se développer dans les solutions au 1/100 de safranine, nous n'accordons pas à cette substance la valeur que lui avaient attribuée MM. G. Sée et Moreau dans leurs premières expériences. Le *b. coli communis* et le *st. aureus* s'y développent facilement dans des solutions à 1/2000; ces solutions offrent un peu plus de résistance au gonococcus.

Nous sommes donc amenés à reconnaître avec M. le professeur Stilling que, de tous les dérivés de la série aromatique de l'aniline, les couleurs violettes sont les antiseptiques les plus puissants. Les succès ont été les mêmes dans son service et dans celui de M. le professeur Panas, pour les kératites simples et les ulcères de la cornée. Dans certains cas cependant, nous avons vu que M. Panas avait dû cesser le traitement et revenir au nitrate d'argent. Dans les ophtalmies purulentes ou blennorrhagiques, les résultats ont été peu satisfaisants.

Nous pensons également avec MM. Le Dentu, Richelot, Reclus et Bazy, que dans les cas de tumeurs malignes, carcinomes, épithéliomas; les injections de pyoktanine et de violet de gentiane sont d'une inefficacité absolue.

En somme, les couleurs d'aniline sont des antiseptiques bien faibles si on les compare au sublimé qui en solution très étendue (1/20000), suffit pour tuer les organismes inférieurs (bactéries) et qui agit dans ce sens cent fois plus énergiquement encore que l'acide phénique. Quelques cas d'intoxication leur ont été reprochés ; mais ils sont rares et quoique la puissance toxique des couleurs d'aniline soit pour ainsi dire nulle, cette propriété seule ne peut suffire dans aucun cas pour les faire préférer aux antiseptiques courants.

Vu : le Président de la thèse,
BROUARDEL.

Vu : le Doyen,
BROUARDEL.

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
GRÉARD.

